

The Osteoclastogenic Activity in the Bone Regenerates Following Mandibular Distraction Osteogenesis

著者	王 嘉郁
号	30
学位授与番号	323
URL	http://hdl.handle.net/10097/36485

氏 名 (本籍) : ^{フン}王 ^{シヤ}嘉 ^ユ郁

学 位 の 種 類 : 博 士 (歯 学) 学 位 記 番 号 : 歯 博 第 3 2 3 号

学位授与年月日 : 平 成 1 7 年 3 月 2 5 日 学位授与の要件 : 学位規則第 4 条第 1 項該当

研 究 科 ・ 専 攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程) 歯科学専攻

学 位 論 文 題 目 : The Osteoclastogenic Activity in the Bone Regenerates Following Mandibular
Distraction Osteogenesis

(顎骨延長術により得られた新生骨における破骨細胞活性化因子の局在)

論 文 審 査 委 員 : (主査) 教授 五十嵐 薫

教授 笹 野 泰 之 教授 小 関 健 由

論 文 内 容 要 旨

INTRODUCTION

Mandibular distraction osteogenesis is a well-developed technique with wide-spread clinical applications in multiple aspects. Most previous studies concerning with tooth movement into distraction regenerates indicate that tooth movement could be faster at the initial stage of consolidation and be achieved with lighter force. However, our previous study revealed that root resorption occurred while tooth moving into immature distracted new bone. Thus, screening gene expression of osteoclastogenic cytokines or osteoclastic activity can explore the resorptive activity of distraction regenerates.

In the present study, an animal model of mandibular distraction was established to clarify the osteoclastogenic or osteoclastic activity in distraction regenerates during consolidation.

MATERIALS AND METHODS

Twenty-one Japanese rabbits were used in this experiment. Experimental animals were divided into 1 control and 6 experimental groups. Surgical procedures of distraction were performed under general anesthesia. After 3.5 days of latency period, unilateral mandibular distraction was performed 0.5mm twice daily for 7 days, and a 7-mm distraction regenerate was produced. Three animals were killed and sampled at each time point after 0, 1, 2, 4, 6, or 8 weeks of consolidation period.

Experimental animals were killed by perfusion with buffered paraformaldehyde and glutaraldehyde. After mandible was dissected, soft radiographs were taken with aluminum step to evaluate calcification level. Then, paraffin section blocks of distracted regenerates were prepared. Histological evaluation of H&E staining and *in situ* hybridization were performed for further observation and quantification as described in the manuscript.

RESULTS

The amount of distraction in each experimental animal was confirmed to be approximately 6.0 to 7.0 mm on radiographic films. Also, midline deviation and occlusal plane canting were observed grossly.

In the histological sections of experimental groups, distraction regenerates with bone trabeculae oriented from osteotomy line parallel to distraction direction, and intra-bony remodeling upon consolidation time was observed. At the beginning of consolidation, the osteotomy line was identified as a clean-cut line. Bone

trabeculae became more mature in consequent to bone marrow maturation. Finally, most of the newly-formed bone trabeculae were replaced by the marrow space and matured bone at 8 weeks. Calcification of distraction gap progressed by time and reached to the level of normal control by the end of observation period.

The number of osteoclasts in distraction gap was transiently increased at the beginning of consolidation period.

DISCUSSION

While RANKL can induce osteoclastogenesis under physiological condition such as tooth movement or physiological bone remodeling, IL-1 β and TNF- α cooperatively induce osteoclastogenesis whether under inflammatory condition or in bone fracture healing. Thus, increase in the number of osteoclast in distraction regenerates demonstrated in the present study could have resulted from the increase in gene expression as well as the increase in numbers of osteoblasts expressing those cytokines. Taken results together, distraction regenerates could be considered under bone remodeling phase with higher turnover rate with osteoclastic and osteoclastogenic activity. Although the origin of odontoclasts is almost unknown, the mechanisms to recruit, differentiate and maintain them are believed to be similar to those of osteoclasts. Therefore, the severe root resorption aforementioned in the report is explicable.

In conclusion, consequent to the apparent increase of osteoclasts, the risk for root resorption of orthodontically moving tooth through distraction gap during early consolidation period was highly suspected. Further experiments are needed to clarify the mechanism how odontoclasts are recruited in distraction regenerates.

審 査 結 果 要 旨

近年、顎顔面領域における骨延長術は、顎変形症を含む様々な先天性疾患、症候群などを対象として行われている。顎骨延長術適用後の咬合形成において、延長部新生骨への歯の移動を行う際に、新生骨の成熟が不十分な場合、移動歯に歯根吸収を生じることが示されている。これは、新生骨が、旺盛な骨改造を伴って形成され、骨形成に寄与する骨芽細胞だけでなく破骨細胞をも多量に含んでおり、これが歯の移動により新生骨に進入する歯根を吸収するためであると考えられる。本研究は、白色家兎の実験動物モデルを用いて、下顎骨延長術適用後の新生骨における破骨細胞分化に関与する分子の発現について検討することを目的とした。本研究テーマは、骨延長術における新生骨形成のメカニズムなどを解明するためのものであり、博士課程における研究テーマとして妥当である。

本研究では生後4～6カ月の雄性の白色家兎を実験動物として用いた。全身麻酔下にて右側下顎骨体部に骨切り術を適用し、骨延長装置を装着した。術後3日間の待機期間の後に、1日に0.75mmの割合で10日間、7mmの骨延長を行った。延長終了後の組織像の変化、骨延長部の石灰化、破骨細胞形成を支持する分子や、破骨細胞の分化マーカー遺伝子の発現を検討した。Cathepsin Kを指標として破骨細胞数を計測するため、in situ hybridization (ISH) 法により、同分子の遺伝子発現を検討した。さらに、破骨細胞形成に促進的に働くサイトカインである、IL-1 β , TNF- α , および RANKL について、ISH 法によりその遺伝子発現を検討した。

本研究の結果、骨延長終了直後の新生組織は線維芽細胞を多量に含む結合組織状を呈し、実験の進行とともに、海綿骨が豊富な組織になると同時に石灰化度が上昇し、約8週間で安定した骨に戻ることが示された。破骨細胞数は骨延長終了直後をピークとして増加し、その後4週間以内に対照群と同様の状態に戻ることが示された。さらに、IL-1 β , TNF- α , および RANKL の遺伝子は、骨延長終了直後から約4週の間に新生骨内の骨芽細胞、線維芽細胞あるいは破骨細胞において発現しているのが観察された。これらの分子の発現は骨延長終了後4週目以降の延長組織内の細胞において減少し、8週目の組織においては対照組織と同様ほとんど認められなかった。

本研究の結果は、下顎骨に適用した骨延長術による新生骨の形成が高い骨改造活性を伴って行われ、骨延長直後の延長組織には破骨細胞分化を支持する種々のサイトカインの遺伝子を発現する細胞が多数存在することを示した。このことは、骨延長術後の延長骨の性質を示す新しい知見であるとともに、延長骨への歯の移動の時期を決定するための指標として矯正臨床の発展にも直接貢献するものとして高く評価できる。よって、本論文を博士（歯学）の学位授与に値するものと判断した。